

微小部蛍光XAFS測定による肺胞洗浄液からの超合金成分の検出

宇尾 基弘¹・渡辺 香奈²・朝倉 清高³

(1 北海道大学 大学院歯学研究所 生体理工学教室 2 福島県立医科大学 呼吸器内科 3 北海道大学 触媒化学研究センター)

研究の背景と目的

◎超合金肺

- 超合金(炭化タングステン/コバルト)製品は優れた切削特性を示すため、各種加工工具に使用されている。
- 一切削時に超合金自体の粉塵が発生し、その吸入により肺や気道に炎症を起こし、高濃度化・長期化することで肺線維症やがん化することが知られている。(超合金肺)
- 超合金肺の診断には組織学的診断の他に、超合金成分を肺組織から検出することが必要であるが、微量のため検出が困難である。また分析のために肺組織を採取することは患者の負担をより大きくする。

実験方法

◎超合金肺試料

- 超合金肺が疑われる患者の肺生検組織及び肺胞洗浄液(15ml)を採取
- 肺生検組織は通法に従い、固定・パラフィン包埋し、組織観察標本を作製すると共に、包埋残部試料を蛍光X線分析に供した。
- 肺胞洗浄液は遠心後、沈殿物を凍結乾燥し、微小部蛍光XAFS測定に供した。(沈殿物の大きさは約0.5mm程度)

◎微小部蛍光XAFS分析

- 高エネルギー加速器研究機構 放射光共同利用施設 BL-9Aにおいて、Fig.1, 2に示すX線ポリキャピラリー(XOS社製)でX線を集光し、肺胞洗浄液沈殿物中央に照射されるよう、Fig.2に示すステージで調整して、W L₁及びL₃ edge XANESスペクトルを蛍光法により測定した。
- キャピラリーによる集光径は試料位置で約60μmφと見積もられた。蛍光測定には19素子半導体検出器(Camberra)を用いた。

◎肺胞洗浄液沈殿物からの分析

- 肺胞洗浄は内視鏡による肺生検に比べて侵襲や患者の負担も少ないが、洗浄液中の固体成分は少なく、その中の微量超合金成分の検出は困難である。
- 一微小部分析が可能な蛍光XAFS系を用いると、微量沈殿物からタングステンの検出と化学状態(炭化物)の同定が可能になると推定される。

◎研究の目的

- X線ポリキャピラリーを用いてX線を集光し、蛍光XAFS測定を行うことで、肺胞洗浄液沈殿物から超合金成分(炭化タングステン)の検出を行う。

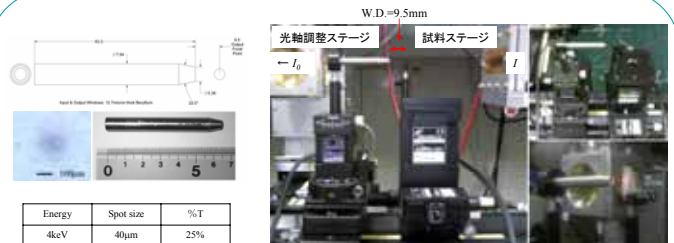


Fig.1 XOS社製ポリキャピラリーと設計時のスポットサイズ・透過率及び集光時のリナグラフの写真

| Energy | Spot size | %T |
|--------|-----------|-----|
| 4keV | 40μm | 25% |
| 15keV | 30μm | 16% |

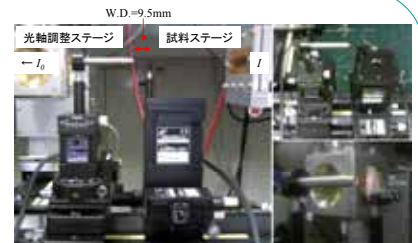


Fig.2 ポリキャピラリー光軸調整ステージと試料ステージ
光軸調整: 0, X, Z (電動), α(手動)
試料駆動: X, Z (電動) コントローラ: SHOT-202 (PF BL-9A)

◎蛍光X線分析

- パラフィン包埋組織をX線分析顕微鏡(堀場XGT-2000V, X線集光径=100μmφ)により、対象元素局在部の蛍光X線スペクトルを測定した。(600秒/点)

結果及び考察

◎肺生検試料の蛍光X線分析

- パラフィン包埋された肺生検の試料片の蛍光X線スペクトル(Fig.3)で、タングステンに由来するピークが検出された。
- Hg, Brは生検組織片の染色に用いたマーキュロロムによるもので、Feなど括弧内のピークはバックグラウンドである。
- タングステンの存在は確認できるが、超合金(炭化タングステン)との確定はできない。また超合金の結合材であるCoのピークは確認できなかった。
- Coが少量であること、バックグラウンド由来のFeに妨害されることが考えられる。

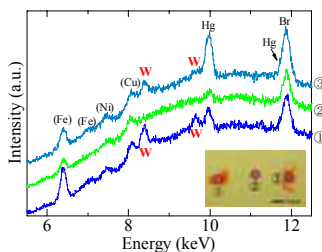


Fig.3 肺生検試料の蛍光X線スペクトル(右下はパラフィン包埋試料写真)

◎肺胞洗浄液沈殿物のW L₃ edge XANESスペクトル

- Fig.6で、肺胞洗浄液沈殿物中に明らかにタングステンが含まれ、そのXANESスペクトルは炭化タングステン(WC)に類似していた。
- (沈殿物のXANESスペクトルは蛍光法で測定)
- タングステンの炭化物と酸化物のL₃ edge XANESスペクトルは形状が類似しているが、吸収端位置がわずかに異なることから、識別が可能であった。

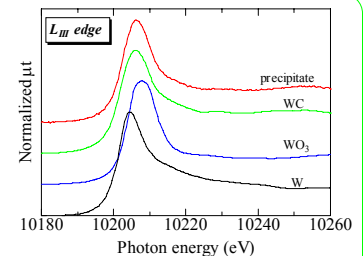


Fig.6 肺胞洗浄液沈殿物および標準試料(WC, WO₃および金属W)のW L₃ edge XANESスペクトル

◎X線ポリキャピラリーを用いた微小部蛍光XAFS測定

- 肺胞洗浄液沈殿物が0.5mm以下と極めて小さいため、X線ポリキャピラリーを用いて、入射光(約1mmφ)を集光した。
- W L₃ edge (~10keV)でのポリキャピラリーの透過率(Fig.4)は約20%であり、集光後のスポットサイズが約60μm(Fig.5; 半値幅)であることから、キャピラリー集光によるゲインは約50倍と見積もられた。
- キャピラリーの光軸調整および微小試料の位置調整に要する時間は概ね1時間以下であり、簡便に微小部光学系への変更が可能であった。

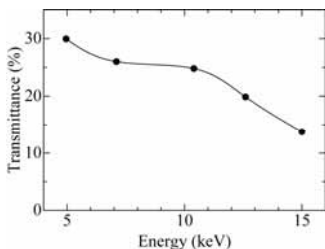


Fig.4 ポリキャピラリー透過率のエネルギー依存性

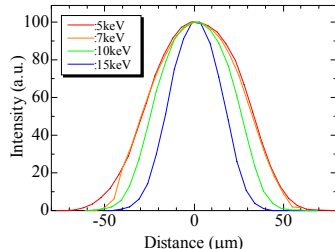


Fig.5 焦点位置(W.D.=9.5mm)でのスポットサイズのエネルギー依存性

◎肺胞洗浄液沈殿物のW L₁ edge XANESスペクトル

- Fig.7に示すとおり、L₁ edgeのXANESスペクトルではL₃に比べ、金属、炭化物、酸化物の差異が明瞭に認められ、肺胞洗浄液沈殿物中のタングステンが炭化タングステン(WC)と識別された。WCは超合金の主要成分であり、本結果から超合金肺の確定診断が可能である。
- L₁ edgeでの蛍光法ではedge前でも蛍光が発生するため、L₁に比べて蛍光法のS/Nが若干低下したと思われる。

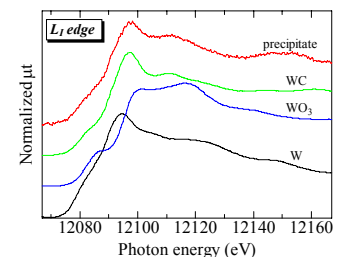


Fig.7 肺胞洗浄液沈殿物および標準試料のW L₁ edge XANESスペクトル

◎肺胞洗浄液沈殿物を用いる利点

- 塵肺症の診断には通常、気管支内視鏡を用いた肺生検が用いられるが、患者への負担が大きく、異物分析用に別途組織を採取することは望ましくない。
- 肺胞洗浄液採取は上記生検に比べて低侵襲であり、患者の負担や危険が少ないが、その中に含まれる異物(本研究に於いてはWC)は極めて微量である。
- 肺胞洗浄液を遠心分離し、微小沈殿物を微小部蛍光XAFS法により分析することで、低侵襲で肺に含まれる異物の分析が可能となった。

結言

- 超合金肺患者の肺胞洗浄液沈殿物からの超合金成分(炭化タングステン)の検出を微小部蛍光XAFS測定により試みた。
- 入射光を60μm程度に集光し、W L edgeの蛍光XANESスペクトルを測定することにより、肺胞洗浄液の微量沈殿物に含まれる炭化タングステン(超合金成分)を確認することが可能であった。

- 肺生検組織の微小部蛍光X線分析により、タングステンの存在を確認することは可能であったが、肺生検は患者への侵襲や負担が大きい。
- 以上より、微小部蛍光XAFS測定を用いることにより、患者の負担が少ない肺胞洗浄液から超合金成分の検出が可能であり、超合金肺の確定診断に寄与することが判明した。

【謝辞】

本研究は高エネルギー加速器研究機構 放射光共同利用実験 2006G199, 2008G039の支援により行いました。